Iranian Journal of Field Crops Research
Homepage: https://jcesc.um.ac.ir

Research Article
Vol. 20, No. 1, Spring 2022, p. 105-119

Physiological Responses of Soybean Plant (DPX) to Pretreatment and Foliar Application of Seaweed Extract (*Ascophyllum nodosum*) and Seed Primary Quality

S. Arab[1], M. Baradaran Firouzabadi[2*], A. Gholami[2], M. Haydari[2]

Received: 04-12-2021 Revised: 17-12-2021 Accepted: 25-12-2021	**How to cite this article:** Arab, S., Baradaran Firouzabadi, M., Gholami, A., and Haydari, M. 2022. Physiological Responses of Soybean Plant (DPX) to Pretreatment and Foliar Application of Seaweed Extract (*Ascophyllum nodosum*) and Seed Primary Quality. Iranian Journal of Field Crops Research 20 (1): 105-119. (in Persian with English abstract). DOI: 10.22067/jcesc.2021.74004.1119.

Introduction

Changes that occur during aging affect seed quality. Vigor is the first component of seed quality that decreases with aging seed, and followed by a decrease in germination capacity, seedling growth and establishment. The seeds of soybeans are classified in the orthodox seeds. These seeds contain high amount of lipid and protein. Seed viability can only be maintained until few months of storage under normal conditions. One of the important steps in soybean seed industry is maintaining seed quality during storage condition for the planting during next growth season or sales. Lack of a proper storage condition would affect the biochemical and physiological nature of soybean seeds and intensify their aging. Changes that occur during deterioration condition affect seed quality. Through the process of deterioration, seed vigor is the first traits of the seed quality that decreases, followed by a decrease in germination capacity, seedling growth and establishment. Wide range of deteriorative conditions (especially moisture content and temperature) may affect seed quality during storage which may lead to seed aging. Hence, to stimulate germination and increase the establishment of seedlings from ageing seeds, treatment can be done using different materials such as brown seaweed extract. To continue the experiment, normal seeds and aged seeds were sown in June 2018 and 2019 at a depth of 2 cm. Each plot consisted of 4 lines 6 m long with a distance of 50 cm between the lines and 10 cm width on the lines.

Materials and Methods

A factorial experiment was performed based on a randomized complete block design with three replications at the research field of Shahroud University of Technology. In this study two sets of seeds including control seeds (un-aged) and aged seed were used and brown seaweed A. nodosum (0.3%) was applied for control, seed pretreatment, foliar spray and seed pretreatment+foliar spray. The brown seaweed extract was "Acadian™ Seaweed Powder" (produced in Canada) containing brown seaweed extract (*Ascophyllum nodosum*), and all the reagent and chemicals for experiments were purchased from Merck (Germany). Soybean seed Var. DPX. was collected from the Mazandaran agricultural research center. The water content of seeds was 12%. The seeds were those that harvested in the same year and kept in a controlled storage room at the temperature between 14 to 17 °C and relative humidity of 30 to 40% at the Agricultural Research and Training Center and Natural Resources of Mazandaran Province. For surface sterilization, soybean seeds were disinfected with 1% sodium hypochlorite for 60 seconds and then washed with distilled water. To prepare aged seeds in the laboratory, the seeds were incubated at 41°C and 95% relative humidity for 72 hours according to the method described previously. For each treatment, 100 g of the soybean seeds were soaked in 20 ml seaweed extract (0.3%) under ventilation condition for 6 hours, following by drying the seeds in the shade.

Results and Discussion

In this study, the results showed that the seed aging reduced the mean daily seedling field emergence, content of soluble sugar, leaf area index, stomatal conductance, oil yield and seed yield and also, increased the electrical conductivity and free amino acids content in the field condition. Whereas, the seed pretreatment with the seaweed extract in normal and aging conditions increased mean daily seedling field emergence 15.31% and 55.03% respectively. The values of leaf area index, stomatal conductance, oil yield and seed yield were increased with application of both pretreatment and foliar spray of seaweed extract, 34.51%, 23.72%, 91.68%

1- Ph D. student of Agronomy, Shahrood University of Technology, Shahrood, Iran
2- Department of Agronomy, Faculty of Agriculture, Shahrood University of Technology, Shahrood, Iran
(*- Corresponding Author Email: m.baradaran.f@gmail.com)
DOI: 10.22067/jcesc.2021.74004.1119

and 87.85% respectively. Seed pre-treatment and foliar spraying with *Ascophyllum nodosum* brown seaweed extract at a concentration of 0.3% improved the deteriorated effects and significantly increased seed yield.

Conclusion

This study concludes that the seaweed extract is effective to minimize negative effects of aging on seeds performance and has a great positive effect on the physiological and agronomic traits of soybean plant. Among the four methods used in this study, the seeds pretreatment+foliar spray was more effective.

Keywords: Antioxidant, Deterioration, Priming, Rockweed

نشریه پژوهشهای زراعی ایران
https://jcesc.um.ac.ir

مقاله پژوهشی

جلد ۲۰، شماره ۱، بهار ۱٤٠١، ص ۱۱۹-۱۰۵

پاسخ‌های فیزیولوژیک گیاه سویا (DPX) به پیش‌تیمار بذر و محلول‌پاشی عصاره جلبک و کیفیت اولیه بذر

صفیه عرب[1]، مهدی برادران فیروزآبادی[2*]، احمد غلامی[2]، مصطفی حیدری[2]

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۹/۱۳
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۱۰/۰۴

چکیده

تغییراتی که در طی فرسودگی رخ می‌دهد بر کیفیت بذر تأثیر می‌گذارند. با فرسودگی بذر، قدرت بذر اولین جـزء از کیفیـت بـذر اسـت کـه کـاهش می‌یابد و به دنبال آن ظرفیت جوانه‌زنی، رشد و استقرار گیاهچه نیز کاهش نشان می‌دهد. به‌منظور بررسی تأثیر عصاره جلبک دریایی (*Ascophyllum nodosum*) بر بهبود کیفیت گیاهان حاصل از بذرهای زوال‌یافته سویا، آزمایشی در مزرعه تحقیقاتی دانشـگاه صـنعتی شـاهرود طـی دو سـال زراعـی ۱۳۹۸-۱۳۹۷ و ۱۳۹۹-۱۳۹۸ اجرا شد. تیمارهای آزمایش شامل کیفیت اولیه بذر در دو سطح (بذر نرمال و بذر فرسوده) و عصاره جلبک دریایی در چهار سطح (شاهد، پیش‌تیمار بذری، محلول‌پاشی برگی، کاربرد توأم پیش‌تیمار بذری و محلول‌پاشی برگی با غلظت ۰/۳ درصد) بودند کـه در قالـب آزمـایش فاکتوریل با طرح پایه بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار سازمان‌دهی شدند. بذور در دمای ۴۱ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۹۵ درصد بـه مـدت ۷۲ ساعت فرسوده شدند. نتایج نشان داد میانگین ظهور گیاهچه در مزرعه، میزان قند محلول موجود در برگ، شاخص سـطح بـرگ، هـدایت روزنـه‌ای، عملکرد روغن و عملکرد دانه در گیاهان حاصل از بذور فرسوده کاهش یافت. فرسودگی موجب افزایش در صفاتی از قبیل میزان اسـیدهای آمینـه آزاد و هدایت الکتریکی غشاء گردید. استفاده از عصاره جلبک به‌صورت پیش‌تیمار بذری در شرایط نرمال و فرسوده موجب افزایش میانگین ظهـور گیاهچـه در مزرعه به‌ترتیب به میزان ۱۵/۳۱ و ۵۵/۰۳ درصد نسبت به عدم کاربرد عصاره شد. کاربرد توأم پیش‌تیمار و محلول‌پاشی عصاره صـفات شـاخص سـطح برگ، هدایت روزنه‌ای، عملکرد روغن و عملکرد دانه را به‌ترتیـب ۳۴/۵۱، ۲۳/۷۲، ۹۱/۶۸ و ۸۷/۸۵ درصـد نسـبت بـه شـاهد افـزایش داد. در محـدوده پژوهش انجام شده می‌توان کاربرد توأم عصاره جلبک دریایی به‌صورت پیش‌تیمار بذری و محلول‌پاشی برگی را به‌عنوان بهترین ترکیب تیماری در جهت بهبود صفات فیزیولوژیک در گیاهان حاصل از بذور فرسوده سویا پیشنهاد نمود.

واژه‌های کلیدی: آنتی‌اکسیدان، پرایمینگ، زوال بذر

مقدمه

فرسودگی بذر[3] که به آن زوال یا پیری[4] هم گفته می‌شود یکی از مشکلات عمده در تولید محصولات زراعی است. تحقیقات نشان داده است که سالانه حدود ۲۵ درصد بذرها، به‌دلیل داشتن کیفیت پایین از بین می‌روند (Shelar *et al.*, 2008). قدرت بذر اولین جزء از کیفیـت بذر است که با زوال کاهش می‌یابد و به‌دنبال آن ظرفیت جوانه‌زنـی و قوه نامیه کاهش می‌یابد (Taji *et al.*, 2014). اگرچه فرسودگی بـذر یک فرآیند غیرقابل انعطاف و برگشت‌ناپذیر می‌باشد و در نهایـت بـذر نیز مانند هر موجود زنده دیگری می‌میرد، ولی بررسی‌ها حـاکی از آن است که با روش‌های انبارداری مناسب می‌توان سـرعت فرسـودگی را کاهش داد. ترکیبات درون یک بـذر روی سـرعت پیـری آن اثرگـذار است. هر چه‌قدر مواد اکسیدشونده مانند روغن در بذرها بیشـتر باشـد، بیشتر در معرض فرسودگی هستند و شیوه‌های انبارداری و رفتار خاص را نیاز دارند. بنابراین بذور روغنی حساسیت بیشتری دارند (Wang *et al.*, 2021). غالباً این گیاهان از اهمیت بالایی نیز برخـوردار هسـتند؛ به‌عنوان مثال سویا با نام علمی *Glycine max* L. گیاهی یک‌ساله از خانواده Fabaceae است که این گیاه زراعی جایگـاه مهمـی در بـین محصولات صنعتی دارد و یکی از مهم‌ترین گیاهان روغنـی در جهـان است. بنابراین یافتن راهکارهایی جهت کـاهش و یـا بهبـود خسـارات ناشی از فرسودگی بذر در سویا ضـروری مـی‌باشـد. تحقیقـات نشـان

۱- دانشجوی دکتری زراعت، دانشگاه صنعتی شاهرود، شاهرود، ایران
۲- دانشیار گروه زراعت، دانشکده کشـاورزی، دانشـگاه صـنعتی شـاهرود، شـاهرود، ایران
(*- نویسنده مسئول: Email: m.baradaran.f@gmail.com)
DOI: 10.22067/jcesc.2021.74004.1119
3- Seed deterioration
4- Seed aging

می‌دهد که درصد جوانه‌زنی، شاخص قدرت گیاهچه و طول ساقه در سویا تحت تأثیر پیری زودرس کاهش می‌یابد (Rajendra *et al.*, 2018). در پژوهش دیگری مشخص شد که که تیمار فرسودگی سبب کاهش درصد جوانه‌زنی، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و افزایش پراکسیداسیون لیپید در سویا می‌گردد (Nazari *et al.*, 2020). نتایج تحقیقات نشان داد که زوال مصنوعی موجب کاهش درصد جوانه‌زنی، شاخص بنیه بذر و همچنین افزایش پراکسیداسیون لیپید در بذور سویا گردید (Maesaroh *et al.*, 2021; Santos *et al.*, 2021; Ebone *et al.*, 2020). محققان دیگر نیز به این نتیجه رسیدند که درصد جوانه‌زنی، شاخص قدرت گیاهچه، طول ساقه‌چه، طول ریشه‌چه، وزن خشک ساقه و ریشه در سویا تحت تأثیر زوال مصنوعی کاهش نشان داد (Rajendra *et al.*, 2018).

امروزه راهکارهای متعددی برای کاهش فرسودگی بذر مطرح است. پیش‌تیمار بذر یکی از روش‌های مهم توانمندسازی بذر می‌باشد، به‌طوری که ابتدا بذرها با استفاده از روش‌های مختلف، آبدهی و سپس برای سهولت حمل و نقل و کاشت دوباره خشک می‌شوند. این عمل، افزایش سرعت و یکنواختی جوانه‌زنی و سبز شدن، افزایش جوانه‌زنی در دامنه وسیع‌تری از عوامل محیطی و بهبود رشد و استقرار و بنیه گیاهچه را در پی دارد (Nascimento, 2013). عصاره برخی گیاهان به‌صورت پیش‌تیمار بذر و یا محلول‌پاشی برگی توانایی کاهش اثرات منفی انواع تنش‌های زنده و غیرزنده و کاهش اثرات منفی فرسودگی بذر را دارا می‌باشند (Hussein *et al.*, 2021).

عصاره جلبک دریایی از جمله موادی است که در کاهش اثرات تنش‌ها از جمله فرسودگی در بذر نقش دارد. جلبک‌های دریایی به این دلیل اهمیت دارند که سرشار از عناصر مغذی شامل نیتروژن، فسفر، پتاسیم و برخی عناصر کم‌مصرف مورد نیاز گیاهان هستند. مواد فعال زیستی استخراج شده از جلبک دریایی در محصولات کشاورزی در سراسر جهان استفاده می‌شوند و بسیاری از آثار مفید آن‌ها به‌ویژه افزایش عملکرد کمی و کیفی محصولات مختلف گزارش شده است. محققان مشاهده کردند که استفاده از عصاره جلبک *A. nodosum* سبب افزایش وزن خشک، فتوسنتز و میزان کلروفیل در سویا گردید (Joshi-Paneri *et al.*, 2020). این محققان دریافتند که این ترکیبات طبیعی می‌توانند به‌عنوان محرک رشد عمل کنند و باید از ظرفیت آن‌ها برای بهبود رشد و عملکرد استفاده کرد. نتایج تحقیقی نشان داد که کاربرد عصاره جلبک دریایی *A. nodosum* به هر دو صورت کاربرد در خاک و محلول‌پاشی سبب افزایش عملکرد و اجزای عملکرد در سویا گردید (Patil *et al.*, 2019). استفاده از جلبک دریایی روی بذر و همچنین به‌صورت محلول‌پاشی برگی سبب افزایش عملکرد دانه در سویا شد و نسبت به گیاهان شاهد ۳۰ درصد افزایش عملکرد به ثبت رسید (Guerreiro *et al.*, 2017). محققان نشان دادند که پیش‌تیمار بذور با عصاره جلبک *A. nodosum* موجب افزایش درصد جوانه‌زنی، قدرت جوانه‌زنی، میانگین مدت زمان جوانه‌زنی و شاخص بنیه بذر در گوجه‌فرنگی (*Lycopersicon sculentum* L.) می‌گردد (Ahmadpour *et al.*, 2020).

تحقیقات انجام شده گویای این موضوع است که بروز هر گونه شرایط نامساعد از قبیل تنش‌های محیطی در مسیر تولید بذور و یا استفاده از شیوه‌های نامناسب تولید و پس از آن نگه‌داری بذور می‌تواند موجب فرسودگی زودهنگام و کاهش توان واقعی بذر شود که خسارت جبران‌ناپذیری را برای تولیدکننده و کشور به‌دنبال خواهد داشت. لذا یافتن راهکاری کارآمد برای کاهش آثار منفی ناشی از بذوری که به هر دلیل دچار فرسودگی شده‌اند، ضرورت دارد. با توجه به این‌که تا به حال تحقیقی به‌منظور بررسی اثر عصاره جلبک دریایی به‌صورت پیش‌تیمار بذری و محلول‌پاشی روی برگ در راستای بهبود بذرهای فرسوده شده سویا و تقویت گیاهان حاصل از آن‌ها انجام نشده است و سندی در این مورد یافت نگردید، در این تحقیق به بررسی این موضوع پرداخته شد.

مواد و روش‌ها

این آزمایش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح پایه بلوک‌های کامل تصادفی در دو سال زراعی (۱۳۹۸-۱۳۹۷ و ۱۳۹۹-۱۳۹۸) در سه تکرار در مزرعه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه صنعتی شاهرود طراحی و اجرا شد. فاکتور اصلی شامل دو سطح مختلف کیفیت اولیه بذر (بذر نرمال و بذر فرسوده) و فاکتور فرعی شامل چهار سطح عصاره جلبک قهوه‌ای *Ascophyllum nodosum* (صفر، پیش‌تیمار بذر، محلول‌پاشی برگی و کاربرد توأم پیش‌تیمار بذر و محلول‌پاشی برگی با غلظت ۰/۳ درصد) بود.

عملیات کاشت سال اول در تاریخ ۲۶ خرداد ۱۳۹۸ و سال دوم ۲۰ خرداد ماه ۱۳۹۹ با دست و در عمق ۲ سانتی‌متری انجام شد. تراکم بوته در مزرعه معادل ۲۰ بوته در متر مربع بود. در طی فصل رشد از کود و سم استفاده نشد. نتایج تجزیه فیزیکو-شیمیایی خاک مزرعه در عمق صفر تا ۳۰ سانتی‌متری، ویژگی‌های آب مزرعه، ویژگی‌های پودر جلبک آکادین و داده‌های هواشناسی منطقه در طی فصل رشد به‌ترتیب در جداول ۱، ۲، ۳ و ۴ نشان داده شده است.

بذر سویا مورد استفاده، رقم DPX (کتول) بود که در طبقه الیت (Registered seed) قرار دارد که از مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان مازندران تهیه شد. بذرهای مورد استفاده، بذرهای برداشت شده همان سال بودند که تا زمان آزمایش در انبار کنترل شده دارای سیستم خنک‌کننده و در محدوده دمایی ۱۴ تا ۱۷ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۳۰ تا ۴۰ درصد نگهداری شدند. بذور با هیپوکلریت سدیم یک درصد به مدت ۶۰ ثانیه ضدعفونی شدند و سپس سه بار با آب مقطر شستشو شدند. برای اعمال تیمار فرسودگی، بذور بر اساس روش‌های موجود با قرار گرفتن در دمای ۴۱ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۹۵ درصد به مدت ۷۲ ساعت فرسوده شدند (ISTA, 2009).

جدول ۱- ویژگی‌های فیزیکو شیمیایی خاک مزرعه

Table 1- Physico-chemical properties of the experimental soil

بافت خاک Soil texture	اسیدیته pH	هدایت الکتریکی Electrical conductivity (EC) $dS.m^{-1}$	کربن آلی Organic carbon %	نیتروژن کل Total nitrogen (N) %	فسفر قابل دسترس Phosphorus (P) $mg.kg^{-1}$	پتاسیم قابل دسترس Potassium (K) $mg.kg^{-1}$
لوم سیلتی Silty Loam	7.36	0.71	0.60	0.066	5.54	240

جدول ۲- ویژگی‌های آب مزرعه

Table 2- Properties of the experimental water

هدایت الکتریکی Electronic conductivity (EC)	اسیدیته pH	HCO_3^-	Cl^-	SO_4^{2-}	Ca^{2+}	Mg^{2+}	Na^+
$dS.m^{-1}$		$meq.l^{-1}$					
1.5	7.4	3.8	10.2	12.2	18.4	11.6	11.0

جدول ۳- برخی ویژگی‌های پودر جلبک آکادین (*A. nodosum*). داده‌ها توسط شرکت تولیدکننده (Acadian Seaplants, Canada) گزارش شده است.

Table 3- Some composition of Acadian marine plant extracts powder (*A. nodosum*) according to information provided by Acadian Seaplants, Canada

Traits	ویژگی‌ها	
Appearance	ظاهر	بلورهای سیاه- قهوه‌ای Brownish-black crystals
Solubility in water	حلالیت در آب	100%
pH		10.0–10.5
Maximum moisture	حداکثر رطوبت	6.5%
Organic matter	مواد آلی	45–55%
Ash (Minerals)	خاکستر (مواد معدنی)	45–55%
Total nitrogen (N)	نیتروژن کل	0.8–1.5%
Available phosphoric acid (P_2O_5)	اسید فسفریک قابل دسترس (P_2O_5)	1–2%
Soluble potash (K_2O)	پتاسیم قابل دسترس (K_2O)	17–22%
Iron (Fe)	آهن	75–250 $mg.L^{-1}$
Manganese (Mn)	منگنز	5–20 $mg.L^{-1}$
Amino acids	اسیدهای آمینه	Total 4.4%

جدول ٤- داده‌های هواشناسی منطقه در دو سال مورد آزمایش (اداره هواشناسی استان سمنان)

Table 4- Meteorological data for the field sites during experiment (Semnan province Meteorological Office)

		بارندگی Precipitation (mm)		رطوبت نسبی Relative humidity (%)		میانگین دما Mean temperature (°C)	
ماه	Month	1398 (2018)	1399 (2019)	1398 (2018)	1399 (2019)	1398 (2018)	1399 (2019)
فروردین	April	75.8	41.4	57	67	11	9.4
اردیبهشت	May	6.8	49.5	47	60	16.2	16.3
خرداد	June	10.7	0.0	46	41	22	24.9
تیر	July	0.0	4.2	42	41	27.5	24.0
مرداد	August	0.0	16.2	42	38	25.1	25.5
شهریور	September	0.0	0.0	42	45	21.3	20.3
مهر	October	3.3	10.7	43	47	14.3	13.8
آبان	November	5.8	4.8	48	51	10.1	9.4

پیش‌تیمار بذور با غلظت ۰/۳ درصد عصاره جلبک دریایی با رعایت اصول هوادهی بذر به مدت شش ساعت انجام شد. برای پیش‌تیمار کردن بذور، در هر ظرف ۵۰ عدد بذر سویا قرار گرفت و با ۱۰ میلی‌لیتر محلول عصاره جلبک دریایی خیسانده شدند. پس از آن بذور در سایه خشک شدند و جهت ادامه آزمایش و اندازه‌گیری صفات در مقایسه با بذور نرمال استفاده گردیدند. تیمار محلول‌پاشی نیز صبح زود و هنگام آغاز گلدهی (R_1) و در شرایط مساعد محیطی انجام شد، طوری‌که برگ‌های گیاه کاملاً خیس شدند (میزان عصاره جلبک محلول‌پاشی شده ۱۰۰ لیتر در مزرعه بود). به‌منظور بهبود جذب برگی عصاره جلبک دریایی، از تریتون X100 با غلظت ۰/۰۱ درصد استفاده شد. اندازه‌گیری صفات دو هفته پس از محلول‌پاشی انجام شد. عصاره جلبک مورد استفاده با نام تجاری آکادین ساخت کشور کانادا و تمامی مواد شیمیایی مورد استفاده مرک آلمان بود.

میانگین ظهور گیاهچه روزانه در مزرعه (MDE[1]) شاخصی از سرعت و تعداد گیاهچه ظاهر شده در مزرعه است که از تقسیم درصد ظهور نهایی گیاهچه (FEP) بر طول دوره آزمایش (D) طبق رابطه (۱) به‌دست آمد (ISTA, 2006).

$$\mathrm{MDE} = \frac{FEP}{D} \qquad (۱)$$

دو هفته پس از اعمال محلول‌پاشی اقدام به اندازه‌گیری صفات گردید. برای اندازه‌گیری میزان کلروفیل a، b و کل، دیسک‌های برگی (۰/۵ گرم) در ۵ میلی‌لیتر از دی‌متیل‌سولفوکسید، در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد و به مدت ۳۰ دقیقه قرار داده شدند (Hiscox and Israelstom, 1979). میزان جذب در طول موج‌های ۶۶۳، ۶۴۵ و ۴۷۰ نانومتر ثبت گردید. تعیین قند محلول به روش فنل اسید سولفوریک (Bonnett and Incoll, 1992) و قند نامحلول با استفاده از اسید پرکلریک ($HClO_4$) و روش یانگ و همکاران (Yang *et al*., 2000) انجام شد. جهت اندازه‌گیری اسیدهای آمینه آزاد از روش ژیانگ و همکاران (Xiong *et al*., 2006) و بافر استیک اسید- استات سدیم، معرف نین هیدرین و اسید آسکوربیک استفاده گردید. هدایت الکتریکی غشاء پلاسمایی برگ‌ها طبق روش بارانکو و همکاران (Barranco *et al*., 2005) اندازه‌گیری شد. برای اندازه‌گیری شاخص سطح برگ دو هفته پس از محلول‌پاشی (R_2)، تعداد پنج بوته از هر تیمار به‌طور تصادفی برداشت شد و سطح تمامی برگ‌های این پنج بوته با استفاده از دستگاه سنجش سطح برگ مدل A3 Light box ساخت کشور انگلستان به ثبت رسید. هدایت روزنه‌ای روی پنج برگ که به‌صورت تصادفی انتخاب شده بودند و با استفاده از دستگاه پرومتر[2] مدل Neterland ساخت کشور هلند اندازه‌گیری شد. درصد روغن دانه با استفاده از دستگاه سوکسله تمام اتوماتیک (Soxtherm 2000 automatic Gerhardt) و روش اوماه و همکاران (Oomah *et al*., 1995) اندازه‌گیری شد. برای محاسبه عملکرد روغن، درصد روغن نمونه‌ها در عملکرد دانه ضرب شد. عملکرد دانه در زمان رسیدگی کامل (R_8) همزمان با زرد شدن ۹۵ درصد نیام‌های بوته‌های مزرعه انجام شد. تعداد بوته‌های موجود در یک مترمربع برداشت و در نهایت عملکرد دانه بر حسب گرم در متر مربع گزارش گردید. برای داده‌های دو سال زراعی، ابتدا آزمون بارتلت انجام شد. برای صفاتی که این آزمون معنی‌دار نبود و همگنی اشتباه آزمایشی تأیید گردید، تجزیه مرکب انجام شد. برای صفاتی که آزمون بارتلت معنی‌دار شد (شامل صفات نسبت کلروفیل a به b، کلروفیل کل و اسیدهای آمینه آزاد) داده‌های هر سال به‌طور جداگانه تجزیه شدند. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS 9.1 و مقایسه میانگین داده‌ها به روش LSD در سطح احتمال پنج درصد صورت پذیرفت.

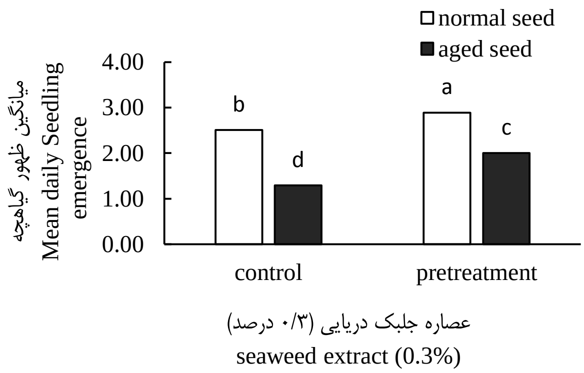
نتایج و بحث

میانگین ظهور گیاهچه روزانه

نتایج تجزیه واریانس این صفت در جدول ۵ گزارش شده است. مقایسه میانگین ظهور گیاهچه در مزرعه در شکل ۱ آورده شده است. بررسی نتایج نشان می‌دهد که کمترین میزان این صفت در بذور فرسوده به ثبت رسید و معادل ۱/۲۹ بذر در روز بود. در بذور نرمال و فرسوده، کاربرد عصاره جلبک دریایی به‌صورت پیش‌تیمار بذری این صفت را به‌ترتیب ۱۵/۳۱ و ۵۵/۰۳ درصد نسبت به عدم کاربرد عصاره افزایش داد. کمتر بودن میانگین ظهور گیاهچه در مزرعه در شرایط فرسودگی، احتمالاً به دلیل وقفه‌هایی است که در شروع فرآیند جوانه‌زنی در بذور فرسوده ایجاد می‌گردد. علت این وقفه ایجاد شده نیز می‌تواند این باشد که بذرها برای اینکه خسارت‌های وارد شده به غشاء را جبران کنند نیاز به زمان دارند و جبران این خسارت‌ها ممکن است بعد از جذب آب توسط بذر امکان‌پذیر باشد. بنابراین مدت زمان لازم برای تکمیل فرآیند جوانه‌زنی در بذرهای فرسوده نسبت به بذرهای نرمال افزایش می‌یابد. نتایج تحقیق حاضر نشان داد که بذرهای فرسوده شده به دلیل کاهش در فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز، افزایش گونه‌های فعال اکسیژن و تخریب در دیواره سلولی در جذب آب دچار مشکل شده و از این‌رو، جوانه‌زنی کاهش می‌یابد (داده‌ها گزارش نشده است). از دیگر دلایل احتمالی کاهش جوانه‌زنی در بذرهای فرسوده می‌توان به کاهش کارایی مصرف مواد ذخیره‌ای بذر و در نتیجه کاهش در انتقال مواد غذایی به محور جنینی و کاهش در رشد سلولی محور جنینی اشاره کرد، که اعمال پیش‌تیمار می‌تواند تا حدودی سبب افزایش در مصرف مواد غذایی شده و از این طریق میانگین ظهور گیاهچه را افزایش دهد. در توافق با نتایج به‌دست آمده، تحقیقات محققان دیگر نیز نشان می‌دهد که فرسودگی بذر

1- Mean daily Seedling field emergence
2- Prometer

منجر به کاهش درصد سبز شدن نهایی و میانگین ظهور گیاهچه در نخود می‌شود (Kapoor *et al.*, 2010). این محققان علت کاهش درصد جوانه‌زنی را تأثیر فرسودگی بذر بر نفوذپذیری غشاء، افزایش تنفس بذر و کاهش انرژی اولیه مورد نیاز بذر برای جوانه‌زنی دانستند. علت افزایش میانگین ظهور گیاهچه در مزرعه با کاربرد عصاره جلبک دریایی به دلیل وجود جیبرلین، سیتوکینین، اکسین و پلی‌ساکاریدها در این ماده می‌باشد (Yusuf *et al.*, 2012). محققان گزارش کردند که عصاره جلبک دریایی سبب افزایش این صفت در برنج (*Oryza sativa*) (Layek *et al.*, 2018) و سویا (Ramarajan *et al.*, 2012) گردید.



شکل ۱-تأثیر برهمکنش کیفیت اولیه بذر و پیش‌تیمار بذور با عصاره جلبک دریایی بر میانگین ظهور گیاهچه در مزرعه (بذر نرمال: normal seed، بذر فرسوده: aged seed) معنی‌داری در سطح احتمال پنج درصد با آزمون LSD

Figure 1- Effect of seed primary quality and seed pretreatment of seaweed extract on mean daily seedling emergence. Significance at the 5% probability level with LSD.

جدول ۵- تجزیه واریانس میانگین مربعات میانگین سبز شدن روزانه (MDE)، هدایت الکتریکی (EC)، شاخص سطح برگ، هدایت روزنه‌ای (SC)، قند محلول (soluble sugar)، قند نامحلول (insoluble sugar)، عملکرد روغن (oil yield) و عملکرد دانه (seed yield) تحت تأثیر فرسودگی و عصاره جلبک در مزرعه سویا (تجزیه مرکب)

Table 5- Variance analysis of mean squares of mean daily seedling field emergence (MDE), soluble sugar, insoluble sugar, electrical conductivity (EC), LAI, stomatal conductance (SC), oil yield and seed yield under aging and seaweed extract on field of soybean

منابع تغییر S.O.V	d.f	MDE	Soluble sugar	Insoluble sugar	EC	LAI	SC	Oil yield	Seed yield
year سال	1	0.24^ns	1797.90 ^ns	782.79 ^ns	1.34^ns	0.004 ^ns	4302.29^ns	395.63 ^ns	10413.46 ^ns
Error 1 خطای اول	4	0.005	970.10	835.08	6.37	0.81	198.41	440.55	11438.94
aging (a) فرسودگی	1	6.68**	7270.68**	71.72 ^ns	350.64**	9.53**	2907.32**	4758.84 **	99706.06**
عصاره جلبک (b) Seaweed extract	3	1.77**	793.54 ^ns	4703.81**	56.34**	1.67**	2564.46**	2108.31 **	52425.19**
a*b	3	0.16*	8630.08**	2589.66**	9.18 ^ns	0.32 ^ns	326.45 ^ns	91.13 ^ns	3082.03 ^ns
y*a	1	0.13	9595.96**	0.0001 ^ns	9.42 ^ns	0.31 ^ns	173.91 ^ns	192.77 ^ns	5306.62 ^ns
y*b	3	0.001	598.39 ^ns	0.00001 ^ns	23.14**	0.64*	156.39 ^ns	25.18 ^ns	716.67 ^ns
y*a*b	3	0.069	1429.12 ^ns	0.00001 ^ns	4.79 ^ns	0.25 ^ns	106.07 ^ns	73.36 ^ns	1941.22 ^ns
Error خطا	28	0.03	688.01	259.36	4.44	0.17	179.51	110.23	2729.54
ضریب تغییرات C.V (%)	-	8.1	11.7	10.7	2.8	16.3	8.7	22.8	22.4

ns، * و ** به‌ترتیب: عدم معنی‌داری، معنی‌داری در سطح پنج درصد و یک درصد.

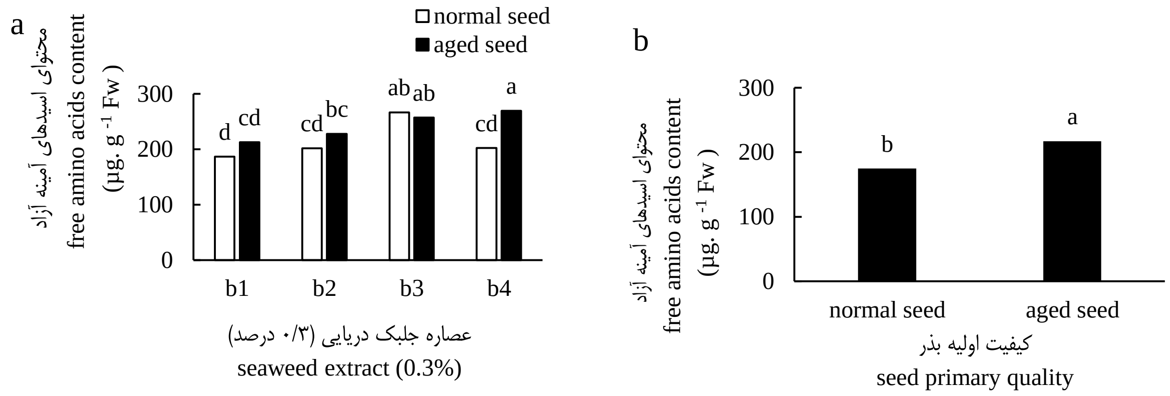
ns, * and **: nonsignificant, significant in 5% and 1% respectively.

اسیدهای آمینه آزاد

از آن‌جایی‌که آزمون بارتلت برای این صفت معنی‌دار شد، داده‌ها در قالب تجزیه ساده (هر سال جداگانه) آنالیز شدند. تجزیه واریانس این صفت در جدول ۶ گزارش شده است. نتایج سال اول آزمایش نشان داد که برهم‌کنش کیفیت اولیه بذر و عصاره جلبک بر محتوای اسیدهای آمینه آزاد در برگ سویا تأثیرگذار بود. همان‌طور که در شکل ۲(a) مشاهده می‌شود در شرایط نرمال تنها کاربرد عصاره به‌صورت محلول‌پاشی موجب افزایش این صفت شد. این در حالی است که در گیاهان حاصل از بذور فرسوده، کاربرد عصاره به‌صورت محلول‌پاشی و

کاربرد توأم آن به‌صورت پیش‌تیمار و محلول‌پاشی توانست میزان اسیدهای آمینه موجود در برگ گیاهان را به‌طور معنی‌داری نسبت به شاهد افزایش دهد. مقدار اسیدهای آمینه آزاد در برگ گیاهان حاصل از بذرهای فرسوده در سال دوم آزمایش، ۲۴/۱۱ درصد بیشتر از برگ گیاهان نرمال بود (شکل ۲b).

اسیدهای آمینه به‌عنوان ترکیبات نیتروژنی آلی، بلوک‌های ساختمانی پروتئین هستند. اسیدهای آمینه در بیوسنتز متابولیت‌های ثانویه و هورمونی نقش مهمی ایفا می‌کنند. این مواد از طریق تأثیر بر کلروفیل و فتوسنتز، بر رشد و عملکرد گیاهان مؤثر هستند (Gawronska, 2008). دلیل افزایش اسیدهای آمینه آزاد در گیاهان حاصل از بذور فرسوده را می‌توان ویژگی اسمولیتی این ترکیبات به‌منظور جاروب کردن رادیکال‌های آزاد حاصل از واکنش‌های فرسودگی دانست (Akbari *et al*., 2019). یکی از دلایل افزایش این صفت با کاربرد عصاره جلبک این است که عصاره جلبک حاوی اسیدهای آمینه است (Colla *et al*., 2014).



شکل ۱- تأثیر برهم‌کنش کیفیت اولیه بذر و عصاره جلبک دریایی در سال ۱۳۹۸ (a) و تأثیر کیفیت اولیه بذر در سال ۱۳۹۹ (b) بر محتوای اسیدهای آمینه آزاد در برگ‌ها. b1: صفر، b2: پیش‌تیمار، b3: محلول‌پاشی و b4: پیش‌تیمار بذری به همراه محلول‌پاشی. ستون‌های دارای حداقل یک حرف مشترک اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال پنج درصد با آزمون LSD ندارند.

Figure 2- Effect of seed primary quality and seaweed extract in 2018 (a) and effect of seed primary quality in 2019 (b) on free amino acids content of leaves. b1: control, b2: pretreatment, b3: foliar spray and b4: seed pretreatment+foliar spray. Columns with at least one same letter have not significant difference at 5% probability level using the LSD.

جدول ٦- تجزیه واریانس میانگین مربعات اسیدهای آمینه آزاد (free aminoacids)، نسبت کلروفیل a به b (Chl_a/Chl_b) و کلروفیل کل (Chl_{total}) تحت تأثیر فرسودگی و عصاره جلبک در مزرعه سویا (تجزیه جداگانه سال ۱۳۹۸ و ۱۳۹۹)

Table 6- Variance analysis of mean squares of free aminoacids, Chl_a/Chl_b and Chl_{total} under aging and seaweed extract on field of soybean (2018 and 2019)

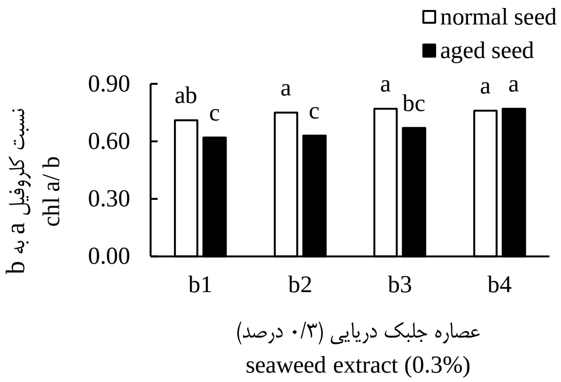
منابع تغییر S.O.V	درجه آزادی df	Free aminoacids	Chl_a/Chl_b	Chl_{total}	Free aminoacids	Chl_a/Chl_b	Chl_{total}
		۱۳۹۸ (2018)			۱۳۹۹ (2019)		
Replication تکرار	1	428.53	0.001	0.06	1273.23	0.085	0.08
Aging (a) زوال	4	4558.58**	0.03**	0.002 ns	10652.61**	0.22*	1.94*
عصاره جلبک (b) Seaweed extract	1	4383.43**	0.004 ns	0.67*	907.57	0.30**	2.30**
a*b	3	1473.73*	0.015**	0.34 ns	84.47	0.04	1.81*
Error خطای	14	388.91	0.001	0.18	539.48	0.026	0.37
C.V (%) ضریب تغییرات	-	8.6	6.2	6.9	11.9	15.6	10.4

ns، * و ** به‌ترتیب: عدم معنی‌داری، معنی‌داری در سطح پنج درصد و یک درصد.

ns, * and **: nonsignificant, significant in 5% and 1% respectively.

رنگدانه‌های فتوسنتری (نسبت کلروفیل a به b و کلروفیل کل)

نتایج تجزیه واریانس در جدول ۶ نشان داده شده است. بررسی شکل ۳ بیانگر این است که نسبت کلروفیل a به b در برگ گیاهان حاصل از بذور فرسوده در سال ۱۳۹۸، به میزان معنی‌داری کمتر از شرایط نرمال بود. کاربرد عصاره جلبک در شرایط نرمال تأثیری بر این صفت نشان نداد و کاربرد توأم پیش‌تیمار و محلول‌پاشی در شرایط فرسودگی موجب افزایش معنی‌دار این صفت شد (شکل ۳).

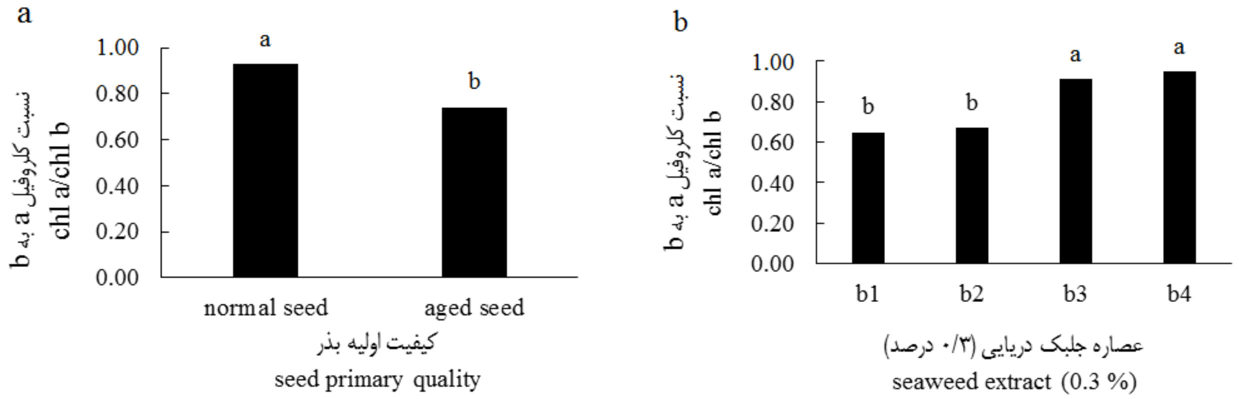


شکل ۳- تأثیر برهم‌کنش کیفیت اولیه بذر و عصاره جلبک دریایی بر نسبت کلروفیل a به b در سال ۱۳۹۸. b1: صفر، b2: پیش‌تیمار، b3: محلول‌پاشی و b4: پیش‌تیمار بذری به همراه محلول‌پاشی برگی. ستون‌های دارای حداقل یک حرف مشترک اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال پنج درصد با آزمون LSD ندارند.

Figure 4- Effect of seed primary quality and seed pretreatment of seaweed extract on chl a/chl b in 2018. b1: control, b2: pretreatment, b3: foliar spray and b4: seed pretreatment+foliar spray. Columns with at least one same letter have not significant difference at 5% probability level using the LSD.

نتایج سال دوم بیانگر این بود که فرسودگی بذر موجب کاهش ۲۰/۴۳ درصدی در نسبت کلروفیل a به b شد (شکل ۴a) و استفاده از عصاره جلبک دریایی به‌صورت محلول‌پاشی و همچنین کاربرد توأم پیش‌تیمار و محلول‌پاشی توانست این صفت را به‌طور معنی‌داری نسبت به شاهد ارتقا دهد (شکل ۴b).

نتایج این پژوهش نشان داد که اعمال فرسودگی از طریق کاهش میزان کلروفیل a موجب کاهش نسبت کلروفیل a به b گردیده است که دلیل این کاهش می‌تواند تخریب کلروفیل به‌وسیله گونه‌های فعال اکسیژن باشد. کلروفیل a مرکز واکنش فتوسیستم‌های I و II است. لذا افزایش آن، تقویت سیستم فتوسنتزی گیاه را به دنبال خواهد داشت (Nayar and Gupta, 2006).



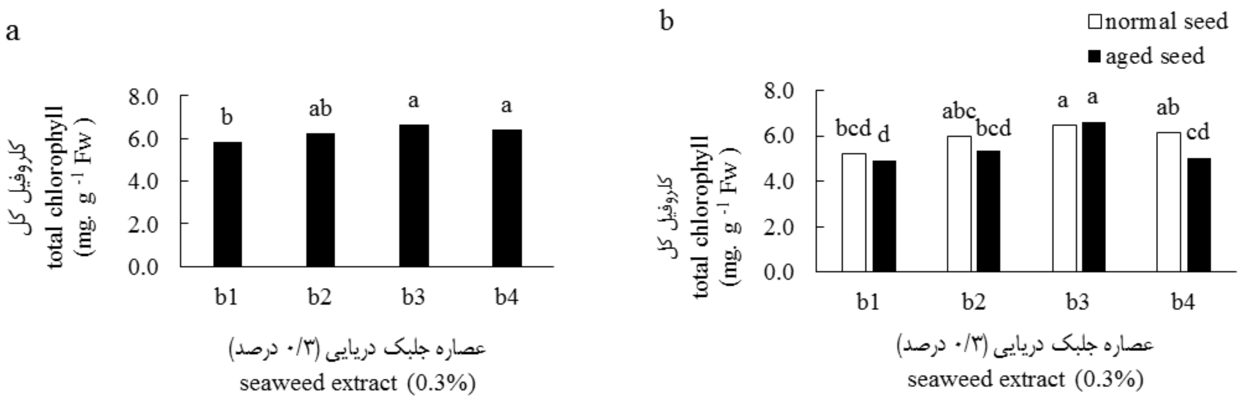
شکل ٤- تأثیر کیفیت اولیه بذر (a) و عصاره جلبک دریایی (b) بر نسبت کلروفیل a به b در سال ۱۳۹۹. b1: صفر، b2: پیش‌تیمار، b3: محلول‌پاشی و b4: پیش‌تیمار بذری به همراه محلول‌پاشی برگی. ستون های دارای حداقل یک حرف مشترک اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال پنج درصد با آزمون LSD ندارند.

Figure 4- Effect of seed primary quality (a) and seaweed extract (b) on chl a/chl b in 2019. b1: control, b2: pretreatment, b3: foliar spray and b4: seed pretreatment+foliar spray. Columns with at least one same letter have not significant difference at 5% probability level using the LSD.

کاربرد عصاره جلبک دریایی احتمالاً از طریق کاهش تولید گونه‌های مخرب اکسیژن توانسته است از کاهش کلروفیل a جلوگیری کند. در راستای این پژوهش Hussein *et al.* (2021) در ذرت (*Zea mays* L.)، Yusuf *et al.* (2019) در کاهو (*Lactuca sativa*) و Vinoth *et al.* (2017) در گوجه‌فرنگی (*Lycopersicon sculentum* L.) نیز گزارش کردند که کاربرد عصاره جلبک موجب افزایش میزان کلروفیل گردید.

کلروفیل کل در سال اول، تنها تحت تأثیر کاربرد عصاره جلبک

قرار گرفت و تیمار فرسودگی تأثیری بر این صفت نشان نداشت. نتایج سال اول آزمایش نشان داد که کاربرد عصاره جلبک دریایی به‌صورت محلول‌پاشی و کاربرد توأم پیش‌تیمار و محلول‌پاشی موجب افزایش معنی‌دار کلروفیل کل نسبت به شاهد شد (شکل ۵a). بررسی برهم‌کنش کیفیت اولیه بذر و عصاره جلبک دریایی در سال دوم آزمایش حاکی از آن است که در هر دو شرایط نرمال و فرسودگی بذر تنها کاربرد عصاره جلبک به‌صورت محلول‌پاشی موجب افزایش معنی‌دار کلروفیل کل نسبت به شاهد گردید. سایر تیمارها اگرچه این صفت را افزایش دادند ولی از لحاظ آماری با گیاهان شاهد اختلافی نداشتند (شکل ۵b). افزایش در محتوای رنگدانه‌های فتوسنتزی ممکن است ناشی از حضور هورمون سیتوکینین در عصاره جلبکی باشد. سیتوکینین‌ها نمو کلروپلاست را تسریع می‌کنند و منجر به افزایش تعداد و سایز کلروپلاست و گسترش بهتر گرانا می‌شوند (Ali *et al*., 2021). همچنین افزایش میزان رنگدانه‌های فتوسنتزی ممکن است به دلیل حضور بتائین‌ها در عصاره جلبک دریایی باشد (Vijayanand *et al*., 2014). نتایج بررسی‌های قبلی نیز نشان داده است که کاربرد عصاره جلبک دریایی سبب افزایش سطح کلروفیل برگ از طریق افزایش سنتز آن می‌شود (Khan *et al*., 2009). مشابه نتایج تحقیق حاضر محققان دیگری نیز گزارش کردند که کاربرد عصاره جلبک دریایی سبب افزایش میزان کلروفیل در سویا گردید (Joshi paneri *et al*., 2020; Ramarajan *et al*., 2012)

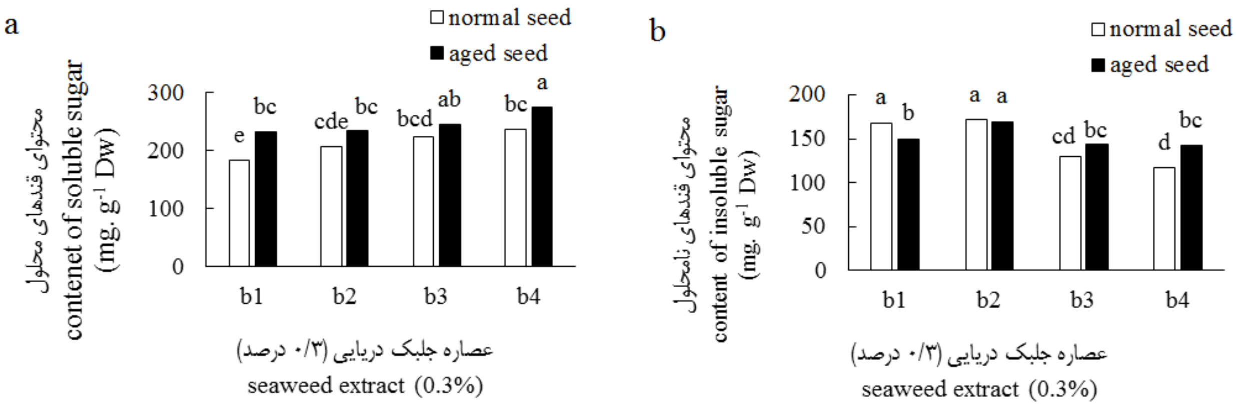


شکل ۵- تأثیر عصاره جلبک دریایی بر میزان کلروفیل کل در سال ۱۳۹۸ (الف) و برهم‌کنش کیفیت اولیه بذر و عصاره جلبک دریایی بر میزان کلروفیل کل در سال ۱۳۹۹. b1: صفر، b2: پیش‌تیمار، b3: محلول‌پاشی و b4: پیش‌تیمار بذری به همراه محلول‌پاشی
ستون های دارای حداقل یک حرف مشترک اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال پنج درصد با آزمون LSD ندارند.

Figure 5- Effect of seaweed extract on total chlorophyll in 2018 (a) and seed primary quality and seaweed extract on total chlorophyll in 2019. b1: control, b2: pretreatment, b3: foliar spray and b4: seed pretreatment+foliar spray.
Means followed by the same letters in each column are not significantly different by LSD test at 5% probability level.

قندهای محلول و نامحلول

تجزیه واریانس میانگین مربعات این صفات در جدول ۵ نشان داده شده است. پیری تسریع شده در گیاهانی که عصاره را دریافت نکرده بودند (نه به‌صورت پیش‌تیمار و نه به‌صورت محلول‌پاشی)، موجب افزایش ۲۶/۹۴ درصدی میزان قندهای محلول و کاهش ۱۰/۸۴ درصدی قندهای نامحلول موجود در برگ نسبت به شرایط نرمال شد (شکل ۶a و ۶b). در شرایط فرسودگی، تنها کاربرد پیش‌تیمار به همراه محلول‌پاشی موجب افزایش معنی‌دار قندهای محلول نسبت به شاهد شد ولی در گیاهان حاصل از بذور نرمال، تیمار محلول‌پاشی و همچنین کاربرد توأم پیش‌تیمار به همراه محلول‌پاشی، این صفت را نسبت به شاهد افزایش داد (شکل ۶a). در شرایط نرمال، محلول‌پاشی و کاربرد توأم پیش‌تیمار به همراه محلول‌پاشی موجب کاهش میزان قندهای نامحلول شدند (شکل ۶b). قندهای محلول جزئی از محافظان اسمزی هستند که در پاسخ به تنش‌ها تجمع می‌یابند و در تنظیم اسمزی نقش دارند. قندهای محلول با افزایش فشار اسمزی، نگه‌داری تورژسانس، پایداری غشاءها و پروتئین‌ها به گیاه کمک می‌کنند (Movahhedi Dehnavi *et al*., 2017). مهم‌ترین عامل افزایش قند محلول در شرایط فرسودگی در این پژوهش می‌تواند تخریب هیدرات‌های کربن نامحلول (نشاسته) باشد که در نهایت منجر به افزایش قندهای محلول می‌شود. پژوهشگران دیگر نیز نشان دادند که فرسودگی بذر سویا موجب افزایش میزان قند محلول در برگ گیاهان حاصل از این بذور شد (Mansouri Gandamany *et al*., 2015). این محققان بیان کردند که شاید بتوان افزایش قندهای محلول در شرایط فرسودگی را با فعالیت بیشتر چرخه گلی‌اکسیلات و مسیر گلوکونئوژنز که در طی آن ذخایر لیپیدی به هیدرات‌های کربن تبدیل می‌شوند، توجیه کرد. پژوهشگران دریافتند که عصاره جلبک به دلیل داشتن هورمون‌های رشد، عناصر میکرو و ماکرو و همچنین به دلیل حضور مولکول‌های آلی نظیر اسیدهای آلی منجر به افزایش میزان قند محلول می‌شود (Jannin *et al*., 2013).



شکل ٦- تأثیر برهم‌کنش کیفیت اولیه بذر و عصاره جلبک دریایی بر محتوای قند محلول و نامحلول موجود در برگ. b1: صفر، b2: پیش‌تیمار، b3: محلول‌پاشی و b4: پیش‌تیمار بذری به همراه محلول‌پاشی برگی. ستون های دارای حداقل یک حرف مشترک اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال پنج درصد با آزمون LSD ندارند.

Figure 6. Effect of seed primary quality and seaweed extract on content of soluble and insoluble sugars in leaves. b1: control, b2: pretreatment, b3: foliar spray and b4: seed pretreatment+foliar spray. Columns with at least one same letter have not significant difference at 5% probability level using the LSD.

شاخص هدایت الکتریکی غشاء

طبق نتایج به‌دست آمده در این تحقیق، شاخص هدایت الکتریکی غشاء در برگ گیاهان رویبده از بذور فرسوده ۵/۴۱ درصد بیشتر از شرایط نرمال بود. استفاده از تمامی سطوح عصاره جلبک دریایی در این پژوهش موجب کاهش معنی‌دار این صفت از ۷۸ درصد به حدود ۷۴ درصد شد (جدول ۷). یکی از دلایل افزایش شاخص هدایت الکتریکی غشاء در شرایط فرسودگی احتمالاً افزایش پراکسیداسیون لیپیدها است که منجر به افزایش رادیکال‌های آزاد می‌شود و به غشاء خسارت وارد می‌کند. تولید و انباشتگی رادیکال‌های آزاد موجب خسارت به اسیدهای چرب غیراشباع غشاهای سلولی می‌شود، در ادامه رادیکال‌های آزاد دیگری تولید می‌شوند که این رادیکال‌ها با یکدیگر ترکیب و در نهایت کلیه این تغییرات به اختلال در غشاء، افزایش نفوذپذیری و نشت مواد از برگ و در نهایت افزایش هدایت الکتریکی منجر می‌شوند (Ghaderifar *et al*., 2012). احتمالاً عصاره جلبک دریایی نیز با کاهش دادن میزان گونه‌های فعال اکسیژن موجب کاهش شاخص هدایت الکتریکی گردیده است. در تحقیقی محلول-پاشی عصاره جلبک قهوه‌ای موجب کاهش شاخص هدایت الکتریکی غشاء در لوبیا سفید (*Phaseolus lanatus* L.) شد (Beigzadeh *et al*., 2019).

شاخص سطح برگ

فرسودگی بذر موجب شد که شاخص سطح برگ در گیاهان رویبده از این بذور به میزان ۲۹/۲۷ درصد کاهش یابد (جدول ۷). استفاده از عصاره جلبک دریایی به‌صورت محلول‌پاشی و همچنین کاربرد پیش‌تیمار به همراه محلول‌پاشی موجب افزایش چشمگیر ۲۲/۱۲ و ۳۴/۱۵ درصدی در شاخص سطح برگ شد (جدول ۷). احتمالاً تیمار فرسودگی در این تحقیق از طریق کاهش دادن درصد سبز شدن نهایی مزرعه موجب کاهش معنی‌دار شاخص سطح برگ گردید. کاهش سطح برگ منجر به کاهش سرعت فتوسنتز خالص می‌شود و در نتیجه مواد فتوسنتزی برای رشد گیاه کاهش می‌یابد. در تحقیق دیگری مشخص شد که فرسودگی سبب کاهش سطح برگ در سویا شد (Ebone *et al*., 2020). در توافق با این تحقیق، نتایج سایر تحقیقات نشان دادند که عصاره جلبک دریایی از طریق افزایش سنتز کلروفیل موجب افزایش سطح برگ نخود و سویا گردید (Khan *et al*., 2009; Patil *et al*., 2019).

هدایت روزنه‌ای

هدایت روزنه‌ای در برگ گیاهان حاصل از بذور فرسوده ۹/۶۴ درصد کمتر از گیاهان شاهد بود (جدول ۷). استفاده از عصاره جلبک دریایی به‌صورت محلول‌پاشی و کاربرد توأم پیش‌تیمار و محلول‌پاشی موجب افزایش هدایت روزنه‌ای در برگ سویا شدند. میزان این صفت در گیاهان حاصل از بذور پیش‌تیمار شده اگرچه افزایش یافت ولی از لحاظ آماری با شاهد اختلاف معنی‌دار نشان نداد (جدول ۳). محققان گزارش کردند که محلول‌پاشی عصاره جلبک دریایی موجب افزایش هدایت روزنه‌ای در گلرنگ (*Carthamus tinctorius* L.) (Sibi *et al*., 2015) و اسفناج (*Spinacia oleracea*) شد (Xu *et al*., 2015).

جدول ۷- مقایسه میانگین اثرات کیفیت اولیه بذر و عصاره جلبک دریایی بر هدایت الکتریکی (EC)، شاخص سطح برگ (LAI)، هدایت روزنه‌ای (SC)، عملکرد روغن (Oil yield) و عملکرد دانه (Seed yield) سویا

Table 7- Mean comparison of seed primary quality and seaweed extract on Electrical conductivity (EC), Leaf area index (LAI), Stomatal conductance (SC), Oil yield and Seed yield

Treatments تیمارها	EC	LAI	SC	Oil yield	Seed yield
Seed primary quality کیفیت اولیه بذر	%		mmol CO_2. m^{-2}. S^{-1}	$g.m^{-2}$	$g.m^{-2}$
Normal seed بذر نرمال	72.27	3.04	161.39	55.94	278.83
Aged seed بذر فرسوده	77.68	2.15	145.82	36.02	187.68
LSD 5%	1.246	0.250	7.922	6.208	30.89
Seaweed extract عصاره جلبک دریایی					
Control شاهد	78.20	2.26	140.77	32.46	167.21
Pretreatment پیش‌تیمار	74.01	2.30	146.30	50.83	258.23
Foliar spray محلول‌پاشی	74.15	2.76	153.18	38.42	193.46
پیش‌تیمار+محلول‌پاشی Pretreatment+Foliar spray	73.54	3.04	174.17	62.22	314.11
LSD 5%	1.762	0.354	11.204	8.78	43.69

عملکرد روغن و عملکرد دانه

عملکرد روغن در گیاهان رشد یافته از بذور فرسوده ۳۶/۰۲ گرم در مترمربع بود که به میزان ۱۹/۹۲ گرم در مترمربع کمتر از شرایط نرمال بود (جدول ۷). پیش‌تیمار بذر با عصاره جلبک دریایی موجب افزایش ۵۶/۵۹ درصدی عملکرد روغن نسبت به شاهد شد، در حالی‌که محلول‌پاشی با این ماده اختلافی با شاهد نشان نداد. بالاترین عملکرد روغن معادل ۶۲/۲۲ گرم در مترمربع به گیاهانی اختصاص داشت که عصاره جلبک را به‌صورت کاربرد توأم پیش‌تیمار بذری و محلول‌پاشی برگی دریافت کرده بودند (جدول ۷). از دلایل کاهش میزان روغن در شرایط فرسودگی می‌توان به کاهش سطح برگ، کاهش میزان کلروفیل و در نتیجه کاهش تولید مواد فتوسنتزی اشاره کرد. با توجه به این‌که کلروفیل گیاهان حاصل از بذور فرسوده نیز کاهش یافته است، احتمال می‌رود در ساختار کلروپلاست گیاهان حاصله اختلال به‌وجود آمده باشد و از آن‌جا که بیوسنتز اسیدهای چرب در کلروپلاست و پلاستیدها صورت می‌گیرد بنابراین کاهش معنی‌داری در عملکرد روغن مشاهده گردید (جدول ۷). از آن‌جا که انرژی لازم برای ساختن روغن بسیار بیشتر از انرژی لازم برای ساختن کربوهیدرات‌ها است، گیاه در هنگام کاهش مواد فتوسنتزی میزان کمتری از این مواد را به ساختن روغن اختصاص می‌دهد و موجب کاهش درصد روغن در بذر می‌شود (Verma *et al.*, 2005). مشابه تحقیق حاضر رحیمی و همکاران (Rahimi *et al.*, 2014) در سویا و اوندر و همکاران (Onder *et al.*, 2020) در گلرنگ مشاهده کردند که اعمال فرسودگی موجب کاهش عملکرد روغن در بذر گیاهان حاصل از آن‌ها شد. با توجه به این‌که عصاره جلبک دریایی حاوی مقادیر قابل توجهی از عناصر پتاسیم، فسفر، منیزیم و هورمون‌های گیاهی است، احتمالاً کاربرد جلبک دریایی سبب افزایش فراهمی و جذب عناصر غذایی مذکور به سمت دانه‌ها و در نتیجه افزایش میزان روغن شده است (Shahbazi *et al.*, 2015). محققان دیگری نیز در کلزا مشاهده کردند که کاربرد عصاره جلبک دریایی عملکرد روغن را تا سطح معنی‌داری ارتقا داد (Azarmehr *et al.*, 2016).

نتایج نشان داد که در اثر فرسودگی بذر، عملکرد دانه به میزان ۳۲/۶۹ درصد کاهش نشان داد (جدول ۷). عملکرد دانه در گیاهان شاهد و گیاهانی که عصاره جلبک را تنها به‌صورت محلول‌پاشی دریافت کرده بودند نسبت به تیمارهای دیگر در سطح پایین‌تری قرار گرفت. محلول‌پاشی با عصاره جلبک موجب افزایش ۵۴/۴۳ درصدی عملکرد دانه نسبت به شاهد شد. زمانی که گیاهان عصاره جلبک دریایی را به هر دو صورت پیش‌تیمار بذری و محلول‌پاشی برگی دریافت کردند بالاترین عملکرد دانه (معادل ۳۱۴/۱۱ گرم در متر مربع) را به خود اختصاص دادند که نسبت به شاهد افزایش ۸۷/۸۵ درصدی را نشان داد (جدول ۷). این نتیجه قابل پیش‌بینی بود چراکه فرسودگی بذر احتمالاً از طریق کاهش میانگین ظهور گیاهچه مزرعه (شکل ۱)، شاخص سطح برگ، هدایت روزنه‌ای و افزایش هدایت الکتریکی (جدول ۷) موجب کاهش عملکرد دانه گردیده است. در مقابل عصاره جلبک دریایی ممکن است با افزایش میانگین ظهور گیاهچه، شاخص سطح برگ، هدایت روزنه‌ای و کاهش هدایت الکتریکی موجب افزایش عملکرد دانه شده باشد. افزایش عملکرد در گیاهان تیمار شده با عصاره جلبک دریایی می‌تواند به حضور عناصر ضروری و هورمون‌ها به‌خصوص سیتوکینین‌ها در عصاره جلبک دریایی مرتبط باشد. این افزایش در میزان سیتوکینین در دسترس گیاه موجب شروع گلدهی و افزایش عملکرد در گیاه می‌شود (Vijayanand *et al.*, 2014). در توافق با نتایج این تحقیق، سایر

پژوهش‌ها نشان دادند که استفاده از عصاره جلبک دریایی سبب افزایش عملکرد در سویا گردید (Patil *et al.*, 2019; Kocira *et al.*, 2019).

تجزیه علیت

برای تعیین سهم اثرهای مستقیم و غیر مستقیم متغیرها بر عملکرد دانه از تجزیه علیت استفاده شد. همان‌طور که در جدول ۸ ملاحظه می‌گردد زمانی که عملکرد دانه به عنوان صفت وابسته در نظر گرفته شد میانگین ظهور گیاهچه در مزرعه (۰/۵۹)، هدایت الکتریکی (۰/۵۶-)، شاخص سطح برگ (۰/۵۳) و هدایت روزنه‌ای (۰/۳۹) به‌عنوان متغیرهای اصلی وارد مدل شدند. با توجه به میزان ضریب تبیین ۵۰/۴۶ درصد از تغییرات عملکرد دانه توسط این ۴ صفت توجیه می‌شود. نتایج این پژوهش نشان داد که این ۴ صفت اثرات خود را بیشتر به‌صورت مستقیم بر عملکرد دانه داشتند. بیشترین اثر مستقیم مثبت را به‌ترتیب میانگین ظهور گیاهچه در مزرعه (۰/۳۶۰)، هدایت روزنه‌ای (۰/۲۲۵) و شاخص سطح برگ (۰/۱۹۲) به خود اختصاص دادند. در بین این ۴ صفت، هدایت الکتریکی بیشترین اثر مستقیم و منفی (۰/۱۵۶-) را بر عملکرد دانه داشت.

جدول ۸- تجزیه علیت عملکرد دانه تحت تأثیر صفات میانگین ظهور گیاهچه در مزرعه (MDE)، هدایت الکتریکی (EC)، شاخص سطح برگ (LAI) و هدایت روزنه‌ای (SC) (عملکرد دانه صفت وابسته است)

Table 8- Path coefficient analysis of Mean daily Seedling field emergence (MDE), Electrical *conductivity (EC)*, Leaf area index (LAI) and Stomatal *conductance (SC)* traits on seed yield (seed yield is dependent trait).

Traits	MDE	EC	LAI	SC	Total effects
MDE	**0.360**	0.106	0.091	0.036	0.59
EC	-0.246	**-0.156**	-0.104	-0.056	-0.56
LAI	0.171	0.085	**0.192**	0.079	0.53
SC	0.059	0.036	0.067	**0.225**	0.39
R- Square	0.5046				

نتیجه‌گیری

بر اساس نتایج این تحقیق پیری تسریع شده بذر سبب تغییراتی در فرآیندهای فیزیولوژیکی گیاه سویا از جمله افزایش هدایت الکتریکی و محتوای اسیدهای آمینه آزاد در برگ گیاه و کاهش عملکرد روغن و عملکرد دانه شد. استفاده از عصاره جلبک دریایی به‌ویژه در شرایط فرسودگی بذر اثر مثبت داشت و موجب افزایش عملکرد روغن و دانه شد. سطوح مورد استفاده عصاره جلبک در این پژوهش، تا حدودی اثرات منفی فرسودگی را تخفیف دادند. در نهایت کاربرد توأم این ماده به صورت پیش‌تیمار بذری و محلول‌پاشی برگی برای بهبود شرایط فرسودگی در بذور سویا توصیه می‌شود.

References

1. Ahmadpour, R., Mohammadi, F., and Armand, N. 2020. The effects of *Ascophyllum nodosum* extract on the stimulation of germination indices in *Lycopersicon sculentum* L. under drought stress. Journal of Seed Research 10 (35): 31-44. (in Persian with English abstract).
2. Akbari, M., Baradaran firouzabadi, M., Amerian. M. R., and Farrokhi, N. 2019. The effect of foliar application and seed pretreatment with cinnamic acid on physiological characteristics of Cowpea (*Vigna unguiculata*) aged seeds and resulting plants. Ph.D. Thesis in Crop Physiology. Shahrood University of Technology. 188 pp. (in Persian with English abstract).
3. Ali, O., Ramsubhag, A., and Jayaraman, J. 2021. Biostimulant properties of seaweed extracts in plants: implications towards sustainable crop production. Plants 10 (531): 1-27. https://doi.org/10.3390/plants10030531.
4. Azarmehr, A., Baghi, M., and Ziaeinasab, M. 2016. Effect of seaweed extract and sulphate on yield and some yield components of winter rapeseed (*Brassica Napus* L.) var. Natalie. Iranian Journal of Dynamic Agriculture. 3 (14): 155-165. (in Persian with English abstract).
5. Barranco, D., Ruiz, N., and Gomes, M. 2005. Frost tolerance of eight olive cultivars. European Journal of Horticultural Science 40: 558-560. https://doi.org/10.21273/HORTSCI.40.3.558.
6. Beigzadeh, S., Maleki, A., Mirzaee Heydari, M., Rangin, A., and Khorgami, A. 2019. Effects of salicylic acid and seaweed (*Ascophyllum nodosum*) extracts application on some physiological traits of white bean (*Phaseolus lanatus* L.) under drought stress conditions. Journal of Applied Research in Plants Ecophysiology 1 (14): 21-44. (in Persian with English abstract).
7. Bonnett, G.D., and Incoll, L.D. 1992. Effects on the stem of winter barley of manipulating the soucrose and sink during grain-filling1. Changes in accumulation and loss of mass from intemodes. Journal of Experimental Botany 44: 75-82. https://doi.org/10.1093/jxb/44.1.83.

8. Colla, G., Rouphael, Y., Canaguier, R., Svecova, E., and Cardarelli, M. 2014. Biostimulant action of a plant-derived protein hydrolysate produced through enzymatic hydrolysis. Frontiers in Plant Science 5: 1-6. https://doi.org/10.3389/fpls.2014.00448.
9. Ebone, L. A., Caverzan, A., Tagliari, A., Chiomento, J., Silveira, D., and Chavarria, G. 2020. Soybean seed vigor: uniformity and growth as key factors to improve yield. Agronomy Journal 10 (545): 1-15. https://doi.org/10.3390/agronomy10040545.
10. Gawronska, H. 2008. Bio stimulators in modern agriculture (General aspects). Plant Press Ryko. University of Life Sciences (WULS). 14: 23-89.
11. Ghaderifar, A., Soltani, A., and Sadeghipoor, H. R. 2012. Biochemical changes during ageing in medicinal pumpkin: lipid peroxidation and membrane damage. Iranian Journal of Plant Biology 20 (6): 96-112. (in Persian with English abstract).
12. Guerreiro, J. C., Blainski, E., Silva, D. L., Caramelo, J. P., Pascutti T. M., Oliveira N. C., and Ferreira-Filho, P. 2017. Effect of the seaweed extract applied on seeds and/or foliar sprays on soybean development and productivity. Journal of Food Agriculture and Environment 15 (1): 18-21.
13. Hiscox, J. D., and Israelstom, G. F. 1979. A method for the extraction of chlorophyll from leaf tissue without maceration. Canadian Journal of Botany 57: 1332-1334. https://doi.org/10.1139/b79-163.
14. Hussein, M. H., Eltanahy, E. G., Albakry, A., and Elsafty, N. 2021. Seaweed extracts as prospective plant growth bio-stimulant and salinity stress alleviator for *Vigna sinensis* and *Zea mays*. Journal of Applied Phycology 33 (2): 1-18. https://doi.org/10.1007/s10811-020-02330-x.
15. ISTA (International Seed Testing Association). 2009. International rules for seed testing. Seed Science and Technology 49: 41-86.
16. ISTA (International Seed Testing Association)**.** 2006. International rules for seed testing. Basserdorf, Switzerland, 379 p.
17. Jannin, L., Arkoun, M., Etienne, P., Laıne, P., Goux, D., and Garnica, M. 2013. *Brassica napus* growth is promoted by *Ascophyllum nodosum* (L.) Le Jol. seaweed extract: microarray analysis and physiological characterization of N, C, and S metabolisms. Journal Plant Growth Regulation 32: 31-52. https://doi.org/10.1007/s00344-012-9273-9.
18. Joshi-Paneri, J., Chamberland, G., and Donnelly, D. 2020. Effects of *Chelidonium majus* and *Ascophyllum nodosum* extracts on growth and photosynthesis of soybean. Acta Agrobotanica 73 (1): 1-6.
19. Kapoor, N., Arya, A., Siddiqui, M. A., Amir, A., and Kumar, H. 2010. Seed deterioration in chickpea (*Cicer arietinum* L.) under accelerated ageing. Asian Journal of Plant Science 9: 158-162.
20. Khan, W., Menon, U., Subramanian, S., and Critchley, A. 2009. Seaweed extract as biostimulants of plant growth and development. Journal of Plant Growth Regulation 28: 386-399. https://doi.org/10.1007/s00344-009-9103-x.
21. Kocira, S., Szparaga, A., Kubo, M., Czerwinska, E., and Piskier, T. 2019. Morphological and biochemical responses of *Glycine max* (L.) Merr. to the use of seaweed extract. Agronomy Journal 9 (1): 93. https://doi.org/10.3390/agronomy9020093.
22. Layek, J., Das, A., Ramkrushna, G. I., Sarkar, D., Ghosh, A., Zodape, S. T., Lal, R., Yadav, G. S., Panwar, A. S., Ngachan, S., and Meena, R. S. 2018. Seaweed extract as organic bio-stimulant improves productivity and quality of rice in eastern Himalayas. Journal of Applied Phycology 30: 547-558. https://doi.org/10.1007/s10811-017-1225-0.
23. Maesaroh, S., Wahyu, Y., and Widajati, E. 2021. Seed storability and genetic parameters estimation on accelerated aging seed of argomulyo soybean (*Glycine max* (L.) Merr.) mutant lines. Journal of Agricultural Sciences 31 (3): 763-775. https://doi.org/10.29133/yyutbd.911571.
24. Mansouri Gandamany, V., Omidi, H., and Bostani, A. 2015. Effects of nanoparticle silicon dioxide (SiO_2) and chitosan on modulators seed deterioration and salinity stress in Soybean. Ms. C. thesis of Shahed University. (in Persian with English abstract).
25. Movahhedi Dehnavi, M., Niknam, N., Behzadi, Y., and Mohtashami, R. 2017. Comparison of physiological responses of linseed (*Linum usitatissimum* L.) to drought and salt stress and salicylic acid foliar application. Iranian Journal of Plant Biology 9 (3): 39-62. (in Persian with English abstract).
26. Nascimento, W. M. 2013. Muskmelon seed germination and seedling development in response to seed priming. Scientia Agricola 60: 71-75.
27. Nazari, R., Parsa, S., Afshari, R., and Mahmodi, S. 2020. The effect of seed priming with salicylic acid on the activity of antioxidant enzymes and fat peroxidation in deteriorated seeds (*Glycine max* (L.) Merrill, William variety). Iranian Journal of Seed Science and Technology 1 (9): 50-57. (in Persian with English abstract).
28. Nayar, H., and Gupta, D. 2006. Differential sensitivity of C_3 and C_4 plants to water deficit stress. Association with oxidative stress and antioxidants. Environmental and Experimental Botany 58: 106-113. https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2005.06.021.
29. Onder, S., Tonguc, M., Guvercin, D., and Karakurt, Y. 2020. Biochemical changes stimulated by accelerated aging in safflower seeds (*Carthamus tinctorius* L.). Journal of Seed Science 42: 1-12.
30. Oomah, B. D., Mazza, G., and Przyblski, R. 1995. Comparison of flaxseed meal lipids extracted with different solvent. Journal of Food Science and Technology 29: 654-658. https://doi.org/10.1006/fstl.1996.0100.
31. Patil, S., Bhalerao, G. A., More, V. R., and Waghmare, P. K. 2019. Effect of combination of inorganic fertilizer

and seaweed extract on growth and yield of soybean crop. Journal of Chemistry 7 (6): 2304-2306.

32. Rahimi, G., Bradaran Firouzabadi, M., Makarian, H., and Gholipoor, M. 2014. The effect of seed aging and pretreatment with pyridoxine on growth and yield of soybean in weed competition. M.Sc. Thesis. Shahrood University of Technology. (in Persian with English abstract).
33. Rajendra, D., Satpute, A., and Sanjay, P. 2018. Studies on physiology of soybean seeds by applying tool of accelerated aging test for vigor assessment. Journal of Pharma and Bio Science 7 (3): 12-23.
34. Ramarajan, S., Henry Josef, L., and Saravana Ganthi, A. 2012. Effect of seaweed liquid fertilizer on the germination and pigment concentration of soybean. Journal of Crop Science and Technology 1 (2): 1-5.
35. Santos, R. F., Placido, H. F., Bosche, L. L., Neto, H. Z., Ferando, H., and Alessandro, B. 2021. Accelerated aging methodologies for evaluating physiological potential of treated soybean seeds. Journal of Seed Science 43 (41). https://doi.org/10.1590/2317-1545v43250605.
36. Shahbazi, F., Seyyed nejad, M., Salimi, A., and Gilani, A. 2015. Effect of seaweed extracts on the growth and biochemical constituents of wheat. Journal of Agronomy and Crop Science 8 (3): 283-287.
37. Shelar, V. R., Shaikh, R. S., and Nikam, A. S. 2008. Soybean seed quality during storage: Agricultural Reviews 29 (2): 125-131.
38. Sibi, M., Khazaie, H. M., and Nezami, A. 2015. Effect of concentrations, time and application mode of seaweed extract on yield and quality of spring safflower. Ph.D. Thesis. Ferdowsi University of Mashhad. (in Persian with English abstract).
39. Taji, M., Rahemi karizaki, A., and Daneshmand khosravi, K. 2014. Effect of seed aging on emergence and morphological characteristics of sunflower cultivars (*Helianthus annus* L.). Journal of Applied Research of Plant Ecophysiology 1 (4): 19-30. (in Persian with English abstract).
40. Verma, S. K., Bjpai, G. C., Tewari, S. K., and Singh, J. 2005. Seedling index and yield as influenced by seed size in pigeon pea. Legume Resarch 28: 143-145.
41. Vijayanand, N., Ramya, S. S., and Rathinavel, S. 2014. Potential of liquid extracts of *Sargassum wightii* on growth, biochemical and yield parameters of cluster bean plant. Asian Pacific Journal Reprod 3 (2): 150-155. https://doi.org/10.1016/S2305-0500(14)60019-1.
42. Vinoth, S., Sundari Gurusaravanan, P., Sivakumar, S., Siva, G., Kumar, G. P., Manju Velmurugan, K., Lakshminarayana, V., and Jayabalan, N. 2017. Evaluation of Liquid Extract on salt stress alleviation in tomato plants. Asian Journal of Plant Science 16 (4): 172-183.
43. Wang, R., Wu, F., Xie, X., and Yang, C. 2021. Quantitative trait locus mapping of seed vigor in soybean under -20°C storage and accelerated aging conditions via RAD sequencing. Molecular Biology 43: 1977-1996. https://doi.org/10.3390/cimb43030136.
44. Xiong, Z. T., Chao, L., and Bing, G. 2006. Phytotoxic effects of copper on nitrogen metabolism and plant growth in *Brassica pekinensis* Rupr. Ecotoxicology and Environmental Safety 64: 273-280. https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2006.02.003.
45. Xu, C., and Leskovar, D. I. 2015. Effects of *A. nodosum* seaweed extracts on spinach growth, physiology and nutrition value under drought stress. Scientia Horticultura 183: 39-47. https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2006.02.003.
46. Yang, J., Zhang, J., Huang, Z., Zhu, Q., and Wang, L. 2000. Remobilization of carbon reserved is improved by controlled soil drying during grain filling of wheat. Crop Science 40: 1645-1655. https://doi.org/10.2135/cropsci2000.4061645x.
47. Yusuf, R., Kristiansen, P., and Warwick, N. 2012. Potential effect of plant growth regulators on two seaweed products. Acta Horticulturae 958: 133-138.doi: 10.17660/ActaHortic.2012.958.15.